

2. MELLÉKLET

Liposzómák gyógyszer technológiai alkalmazása

I. Definíciójuk, típusaik, vizsgálati módszereik, nemzetközi gyógyszerészeti irányelveik, kozmetikai alkalmazásuk

Jóváírt: Laczkovich Orsolya, Bónis Erzsébet, Szabóné Révész Pirooska

Bevezetés

Ez a munka egy két cikkből álló cikksorozat első része. Ebben a két irodalmi összefoglalásban célul tűztük ki azt, hogy a liposzómákat, mint ható- és aktív anyag hordozó rendszereket, mutassuk be az olvasóközönségnek gyógyszer technológiai szempontból. Ezt a modern, innovatív formát több oldalról kívánjuk bemutatni. Az első cikk általános összefoglalást ad a típusaikról, csoportosításukról, vizsgálati módszereikről, a készítésükkel és vizsgálataikkal kapcsolatos irányelvekről, és betekintést kíván nyújtani a liposzómák alkalmazásáról a kozmetikai készítményekben.

A cikksorozat második része összefoglalja a készítésükkel kapcsolatos speciális előállítási módszereket, a célzott hatóanyag-bevitel ezen formáját, valamint körbejár egy nagyon speciális és frekvenciát indikációs területet, a citosztatikus hatóanyagok liposzómába zárását. Ezen területről mutat be hazánkban és más országokban forgalomban lévő védjegyzett készítményeket, és a velük kapcsolatos legfontosabb ismereteket összegzi.

Definíciójuk, felépítésük, általános alkalmazásuk

A liposzóma az egyik legsokoldalúbb nanohordozó típus. Felfedezésük a biofarmácia fejlődésének egy rendkívül fontos lépcsőfoka [1]. Elnevezése a görög „lipos” (zsír) és „soma” (test) szavakból ered. Először Alec Douglas Bangham definiálta 1965-ben, aki a sejtmembrán sajátosságainak és működésének tanulmányozására kívánta használni. Az első farmakon tartalmú liposzómát 1971-ben Gregory Gregoriadis és Brenda Ryman írta le az irodalomban [2]. Történeti szempontból a következő lépcsőfok a kozmetikai ipar volt. 1986-ban a L’Oreal, majd 1987-ben a Christian Dior cég hozott forgalomba liposzóma tartalmú kozmetikai készítményt. A ’86-os Lancome (L’Oreal leányvállalata) által forgalmazott Niosome® nevű készítmény ugyan még nioszómákat (nioszóma: szintetikus nemionos tenzid falanyagú vezikulák) tartalmazott, de mérföldkönek tekinthető a liposzómás készítmények piacra kerülésének folyamatában. Az első, valóban liposzómákat tartalmazó kozmetikum a Capture® nevű készítmény a Christian Diortól. Ezeket a készí-

ményeket elsősorban az arc bőr mélyhidratálására használták [3]. A gyógyászatban alkalmazott első liposzóma alapú terméket pedig (doxorubicin-tartalmú, Doxil®, Alza Corporation) 1995-ben engedélyezte az FDA. Az 1. ábra foglalja össze, kronológiai sorrendben, fő lépéseit a liposzómák megjelenésének.

A liposzómák gyógyszerészeti szempontból olyan mikrokapszulának tekinthetők, amelyeket egy vagy több amfifil jellegű molekula épít fel, amely(ek) kettős rétegű membránt alkotnak. Nagy előnyük, hogy vezikuláik hidrofíll és lipofíll anyagokat is tartalmazhatnak. Hordozhatják a hatóanyagot a felszínükhöz kötve, a membránba ágyazva, illetve a belsejükben egyaránt.

Rendkívül fontos előnyös tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek közül kiemelhető a farmakonok hatékonyságának növelése és a mellékhatások csökkentése. Segítségükkel növelhető a terápiás index és csökkenthető a toxicitás. Alkalmazásukkal passzív targeting és specifikus ligandokkal való aktív targeting is elérhető, valamint megvédhetjük a hatóanyagokat a vezikulába történő bezárással. Nem szabad azonban megfelelkezni hátrányos tulajdonságaikról sem. Ezek közül fontos az igen rövid keringési idő, a költséges előállítás, a nem olcsó speciális vizsgálati módszerek igénybevétele, a rövid eltarthatóság és a parenterális felhasználásra szánt készítményeknél az aszeptikus előállítási körülmények biztosítása. Alkalmazásuk hátrányainál lehet még megemlíteni a CARPA (complement activation-related pseudoallergy) jelenséget, amely gyakori mellékhatása az intravénásan alkalmazott ható- vagy biológiai anyagokat tartalmazó nanogyógyszereknek, többek között a liposzómáknak is. Ez egy hirtelen fellépő, akut reakció, amely bőr- és hemodinamikai elváltozásokat okoz. Kialakulása komplement aktiváció függő pszeudoallergiás reakció, ami anafilaxiás sokkhoz vezethet [4].

Felépítésüket tekintve általánosságban elmondhatjuk, hogy foszfolipid kettősréteg képezi a falukat. A foszfolipidek lehetnek természetes és mesterséges eredetűek. A természetes eredetűek közül a legfontosabb a tojásból és a szójából előállított lecitin (foszfatidilkolin, PC). A mesterséges eredetűek közül a legfontosabbak a következők:

– foszfatidsav (PA),



1. ábra: Liposzómák felfedezése és megjelenése

- foszfatidil-glicerol (PG),
- dimirisztoil-foszfatidil-kolin (DMPC),
- dipalmitoil-foszfatidil-kolin (DPPC),
- dipalmitoil-foszfatidsav (DPPA),
- dimirisztoil-foszfatidil-glicerol (DMPG).

Rövidítéseiket az angol nevük alapján használják [2]. A kettősréteg stabilizálására nagyon gyakran *koles-terint* használnak. Újabb típusaikban, keringési idejük növelése céljából, PEG-ilálják, azaz *polietilén-glikolt* kapcsolnak a foszfolipidekre.

Alkalmazásukat tekintve nagyon széles a paletta. Számos ipari területen alkalmazzák mint hordozót: a textiliparban festékek hordozójaként, a mezőgazdaságban növényvédőszer hatóanyagának növelésére, az élelmiszeriparban enzimek, tápanyagok „becsomagolására”, illetve a nanokozmetológiában és a gyógyászatban.

Kozmetikai alkalmazását tekintve, természetesen dermális formában, egy fontos terület a bőr öregedési folyamatának a gátlása. A gyógyászatban dermálisan, intravénásan illetve inhaláció útján a szervezetbe juttatva egyaránt fontos forma. Az indukációs területek közül pedig a legfontosabbak a *tumorelles*, az *antibiotikus* és a *gombaellenes* szerek, továbbá a *szteroid gyulladáscsökkentők*, a *HIV ellenes*, illetve a *génterápiában* alkalmazott készítmények. Ezenkívül alkalmazzák preventív és diagnosztikai céllal is [5].

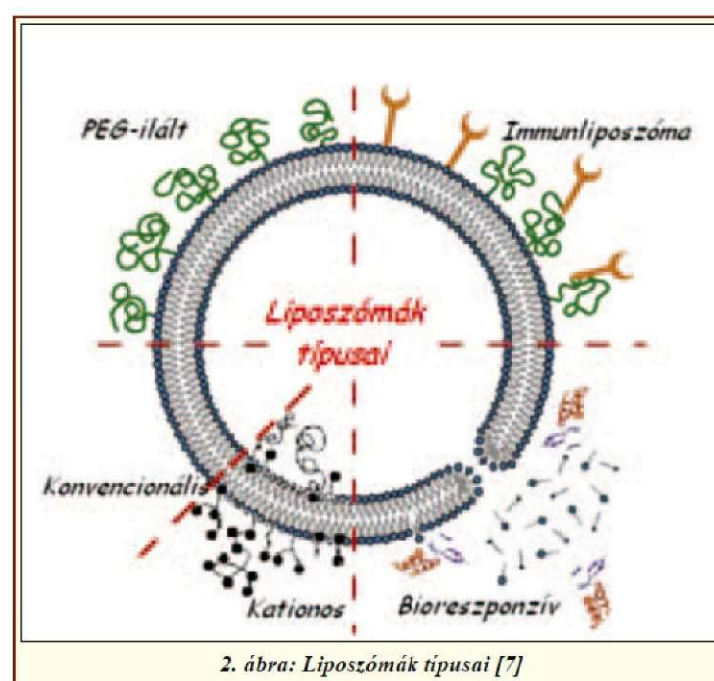
Típusaik, csoportosításuk, osztályozásuk

A liposzómáknak több osztályozási lehetősége is van. Egyrészt *szerkezetük szerint* nagyon változatos hatóanyag-szállító rendszerről van szó, másrészt a *hatóanyag célba juttatása* szempontjából is különféle fajtaikat különböztethetjük meg [6].

Osztályozhatjuk őket a vezikulák száma szerint is. Eszerint lehetnek egy vezikulás, de akár több lamellából álló liposzómák, és beszélhetünk még multivezikulális liposzómákról is. Ez esetben egy liposzómán belül több vezikula foglal helyet egymás mellett.

Csoportosíthatjuk őket a lamellák száma szerint is. E szerint megkülönböztetünk multilamelláris vezikulákat, ezek általában nagyméretűek, 0,5 μm -nél nagyobbak. Előfordulnak még oligolamelláris vezikulák, amelyek szerkezete csak néhány lamellából épül föl és a méretük is kisebb. Általában 0,1-1 μm -ig terjed a mérettartományuk. Természetesen csak egy lamellából álló liposzómák is előfordulnak, ezek az unilamelláris vezikulák.

Ez utóbbiakat méretük szerint további csoportokra bonthatjuk. Lehetnek kisméretűek (*small unilamellar vesicles SUV*): 20-100 nm közöttiek, és lehetnek nagyméretűek (*large unilamellar vesicles LUV*), 100 nm fölöttiek. Néhány irodalom megkülönböztet köztes méretet is (*medium sized unilamellar vesicles MUV*),



2. ábra: Liposzómák típusai [7]

sőt előfordulhatnak óriásméretű liposzómák (*gigant unilamellar vesicles GUV*) is.

A szerkezeti csoportosításon túl osztályozhatjuk őket a hatóanyag célba juttatása, illetve leadása alapján [7]. Ezt mutatja be a 2. ábra.

A *konvencionális* liposzómák rövid keringési idővel rendelkeznek, mert hamar felismerik a retikuloendotheliális rendszer fagocitái, a lép és a máj szöveti makrofágjai és a keringő monocyták. Ezek felszínén nincsenek funkciócsoportok, aptamerek (*aptamer: aptus, latin, kapcsol és meros, görög, rész eredetű szavakból: oligonukleotid vagy peptid molekulák, amelyek specifikus célmolekulához való kötődést tesznek lehetővé*). A keringési idő növelésére több lehetőségünk van. Általánosságban elmondható, hogy a negatív felületi töltöttségük felezési ideje nagyobb, mint a neutrális vagy a pozitív töltésűeké. Ha gangliozidokat (olyan szingolipidek, melyek oligoszacharid-csoportot tartalmaznak) építünk a membránba, ez is növelheti a keringési idejüket, és ezek hatását fokozhatja a membrán rigiditását okozó komponensek (pl. koleszterin) beépítése [8]. A konvencionális liposzómák felszínéhez kovalensen polietilén-glikolt kapcsolhatunk (*PEG-ilált liposzóma*), ezzel is növelhető a keringési idejük, mivel a szterikus gátlás miatt a természetes immunrendszerünk sejtjei később ismerik fel őket, mint a konvencionális liposzómákat [9].

Az *immunliposzómák* antitestekkel vagy antitest fragmentumokkal vannak ellátva, amelyek így az antigénekhez képesek kapcsolódni. A *bioreszponzív* liposzómák patológiai mikrokörnyezet, külső stimulus, illetve speciális enzimek hatására hatóanyagot szabadítanak fel. Ebbe a csoportba sorolhatók a LiPlaszómák, a pH-szenzitív, a fotoszenzitív és a termoszenzitív

liposzómák [10, 11]. A *LiPlaszómák* hatóanyag felszabadítása akkor történik, mikor olyan területre érnek, ahol a jelentős mennyiségű szekretorikus foszfolipáz A2 (sPLA2) halmazódott fel, amelyet a tumoros sejtek szekretálnak nagy mennyiségben. Kiemelt szerepük van a rákterápiában. A *pH-szenzitív* liposzómák alkalmazásának alapja, hogy bizonyos patológiai hatásokra (pl. gyulladás, daganatképződés során) egy terület mikrokörnyezetének kémhatása savasabbá válik, mint a fiziológiás kémhatása. Ezen a csökkent pH-n szabadul fel a hatóanyagtartalmuk. A *fotoszenzitív* liposzómák esetén a hatóanyag-felszabadulás fénybesugárzás hatására történik meg, míg a *termoszenzitív* típusok esetén hő hatására [12], ezt ki is használhatjuk a terápiában külső besugárzás, illetve hőhatás alkalmazásával. A *kationos liposzómák* kettes foszfolipidrétege különleges foszfolipidekből, a dioleoil-foszfatidiletanolaminból (DOPE) és a dimetil-dioktadecil-ammóniumbromidból (DDAB) épül föl, ez pozitív töltést biztosít a liposzóma felszínének, amivel neutralizálni tudja a negatív töltésű DNS-t, így gének beépítésére lesz alkalmas, plazmid vektor alkalmazásával. A *fuzogén* liposzómák alkalmazása szintén génterápiában jelentős, a lipofection során, azaz amikor teljes DNS-t juttatunk be a sejtbe, nem csak fragmentumokat. Ekkor vektorként módosított vírust használnak. Az **I. táblázat** összefoglalva tartalmazza a csoportok legfontosabb jellemzőit és néhány példát az adott csoportra.

A bemutatásra került csoportokon kívül előfordulhatnak másfajta liposzómák is, sőt osztályozási lehetőségeik a jövőben egyre csak bővülnek, az alkalmazási területek fejlődésének megfelelően.

Vizsgálataik, modern analitikai módszerek

A liposzómák vizsgálatai három nagy csoportra oszthatók: a fizikai tulajdonságok meghatározására, a kémiai vizsgálatokra és a biológiai vizsgálatokra. Az analitikai módszerek hatalmas fejlődésen mentek keresztül, számuk megsokszorozódott, érzékenyséjük nagymértékben javult. A **II. táblázat** foglalja össze a legfontosabb módszereket a három nagy csoporton belül. A teljesség igénye nélkül néhány kiemelt módszert mutatunk be ebben a fejezetben.

A liposzómák alakjának és felületi tulajdonságainak jellemzésére képalkotó eljárásokat alkalmaznak. A transzmissziós és a fagyasztva törés elektron mikroszkópia igen modern vizsgálómódszer. A transzmissziós elektron mikroszkópia elektron sugárnyalábot használ a megfigyelendő tárgy felnagyítására, a tárgyon áthaladt sugarat érzékeli. A fagyasztva törés elektron

I. táblázat

Liposzómák típusai és általános jellemzői néhány példával

Típusaik		Általános jellemzőik	Példák bezárt hatóanyagokra
Konvencionális		Rövid keringési idő, felszínükön nincsenek funkciós csoportok, aptamerek	doxorubicin interleukin-2
PEG-ilált		Felszínükön kovalensen kötött polietilénglikol	amfotericin B doxorubicin daunorubicin
Immunliposzómák		Felszínükön antitestek, antitest fragmentumok	antraciklin-glükuronid prodrug β-glükuronidázenzimmal kombinálva
Bioreszponzív liposzómák	LiPlaszóma	Jelentős sPLA2 koncentráció esetén hatóanyag-felszabadulás	ciszplatin doxorubicin
	pH-szenzitív liposzóma	Savas kémhatás hatására hatóanyag-felszabadulás, PE, DOPE, CHEMS tartalmú kettős foszfolipid réteg	doxorubicin epirubicin
	Fotoszenzitív liposzóma	Besugárzás hatására lizolipid képződése miatt hatóanyag-felszabadulás	azobenzén
	Termoszenzitív liposzóma	Hőhatásra hatóanyag-felszabadulás	metotrexát
Kationos liposzóma		DOPE, DDAB tatalmú kettős foszfolipid réteg, plazmid vektor	negatív töltésű oligonukleotidok, exogén plazmidok
Fuzogén liposzóma		Módosított vírus vektor	DNS, RNS

Jelmagyarázat:

sPLA2: szekretorikus foszfolipáz A2, PE: foszfadiletanolamin, DOPE: dioleoil-foszfatidiletanolamin, CHEMS: koleszteril-hemiszuicinát, DDAB: dimetil-dioktadecil-ammonium-bromid

mikroszkópia során a fagyott minta törésére, az erre a célra kialakított, zárt, folyékony nitrogénnel hűtött, alacsony nyomású térben kerül sor. A fém mintatartón elhelyezett anyagnak egy folyékony nitrogénnel hűtött kést vezetnek. Ennek hatására a rideg minta nem metsződik, hanem a kés élétől kiinduló hasadás mentén törik, így nem sík, hanem jellegzetes domborzatú mesterséges felszín kapható. Ezt követően a fagyott törési felszínről ún. platina–szén replika (levonat) készíthető és elektronmikroszkópos úton ez vizsgálható.

A nanotechnológia elengedhetetlen vizsgálómódszere a zetapotenciál mérő készülék. Segítségével megadható a liposzómák átlagos mérete, méreteloszlása, elektromos felületi töltöttsége, felszíni pH-ja. Zetapotenciál alatt a vezikula körüli elektromos kettősréteg elektromos potenciálját értjük. A mérés során nyírásnak teszik ki a mintát és a nyírási síkon mért elektrosztatikus potenciál értéke adható meg.

A biológiai vizsgálatok közül a sterilitás és a pirogénmentesség vizsgálatának akkor van jelentősége, ha az előállított liposzómás készítmény intravénás vagy tudón keresztüli (pulmonális) bevitelre szánt. Ebben az esetben elengedhetetlen ezen vizsgálatoknak az elvégzése. Az állatokon végzett toxicitási vizsgálatokkal kapcsolatban az emelhető ki, hogy a nanotechnológiai ké-

szítmények, így a liposzómás készítmények toxikológiai vizsgálatai rendkívül fontosak, viszont kozmetikai készítmények esetében kifejezetten tiltott az állatokon végzett tesztvizsgálatok elvégzése. Ez a felvetés és az ebből adódó anomália átvezet bennünket a cikk második felére, a liposzómás készítményekkel kapcsolatos irányelvek ismertetésére és a kozmetikai készítményekre.

Liposzómát tartalmazó gyógyszerkészítmények formulálásának, vizsgálatának nemzetközi irányelvei (EMA, FDA, ICH)

A liposzómás gyógyszerkészítményekkel kapcsolatos szabályozási irányelvek a következő csoportokra bonthatók:

- Az Európai Gyógyszerfelügyeleti Bizottság (European Medicines Agency, EMA) szabályozása,
- Az Amerikai Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerfelügyeleti Szerve (Food and Drug Administration, FDA) szabályozása,
- A Nemzetközi Harmonizációs Konferencia (International Conference on Harmonization, ICH) szabályozása.

Az EMA és az FDA szabályozás definiálja is a liposzómákat. Az EMA definíciója szerint: a liposzó-

Liposzómák vizsgálatára alkalmas módszerek		II. táblázat
Meghatározandó paraméter	Analitikai módszer / készülék	
Fizikai vizsgálatok		
1 Vezikula alak, felületi tulajdonságok	Transzmissziós elektron mikroszkópia (TEM) Fagyasztva töréses elektron mikroszkópia	
2 Átlagos vezikula méret és méreteloszlás	Dinamikus fényszórásmérő és zetapotenciál mérő készülék	
3 Felületi töltöttség	Free-flow elektroforézis	
4. Elektromos felületi töltöttség és felszíni pH	Zetapotenciál mérő készülék, pH szenzitív elektród	
5 Lamellaritás jellemzése	Kisszögű röntgen technika, fagyasztva töréses elektron mikroszkópia	
6 Fázis tulajdonságok	Fagyasztva töréses elektron mikroszkópia, differenciális pásztázó kalorimetria (DSC)	
7 Bezáratlan hatóanyag mennyisége/ bezárási hatékonyság	Centrifugációs technika, ioncserés kromatográfia, radioaktív jelöléses technika	
8 Hatóanyag felszabadulás	Diffúziós cellák/ dialízis	
Kémiai vizsgálatok		
1 Foszfolipid koncentráció	Titrimetria, UV spektroszkópia, HPLC	
2 Koleszterin koncentráció	Titrimetria, UV spektroszkópia, HPLC	
3 Foszfolipid peroxidáció	UV spektroszkópia, Jodometria, GLC	
4 Foszfolipid hidrolízis, koleszterin auto-oxidáció	HPLC és TLC	
5 Ozmolaritás	Ozmométerrel történő mérés	
Biológiai vizsgálatok		
1 Sterilitás	Mikrobiológiai tenyésztéses vizsgálatok	
2 Pirogénmentesség	Limulusz Amöbocita Lizátum (LAL) teszt	
3 Toxicitás állatokon	Túlélési arány monitorozása, szövettani vizsgálatok, patológiai vizsgálatok	

mák olyan mesterségesen előállított vezikulák, amelyek egy vagy több koncentrikus lipid kettősrétegből épülnek föl és egy vagy több vizes fázisú kompartmentet határolnak közre. Lehetnek továbbá multivezikulárisak és polimer bevonatosak is. Az FDA ezzel szemben megadja a liposzómás gyógyszerkészítmények definícióját: olyan készítmények, amelyek a hatóanyagot liposzómába csomagolva tartalmazzák. A liposzóma pedig olyan mikroméretű vezikula, amelyet amfifil jellegű lipid molekulák által képzett kettősréteg határol és vizes folyadékteret zár be. A liposzómás készítményben a hatóanyag elhelyezkedhet a lipid kettősrétegben vagy a vizes belső fázisban is.

Az EMA irányelv [13] magában foglalja az egyéb, ezzel a témával kapcsolatos szabályozásokat is:

- Directive 2001/83/EC, as amended
- Part II of the Annex I of Directive 2001/83/EC, as amended
- CHMP/437/04 Guideline on similar biological medicinal products
- Annex II to Note for Guidance on Process Validation CHMP/QWP/848/99 and EMEA/CVMP/598/99 Non Standard Processes (CPMP/QWP/2054/03)
- Guideline on similar medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substances: quality issues
- ICH topic Q5E – Comparability of biotechnological/ biological products
- ICH topic S6 - Note for guidance on Pre-clinical

Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (CPMP/ICH/302/95)

- ICH topic E9 statistical principles for clinical trials
 - Note for guidance on statistical principles for clinical trials (CPMP/ICH/363/96)
 - ICH topic E10 - Note for guidance on choice of control group in clinical trials (Guideline on the choice of the non-inferiority margin (CPMP/EWP/2158/99)
 - Points to consider on switching between superiority and non-inferiority (CPMP/EWP/482/99)
 - Guideline on the investigation of bioequivalence (CPMP/EWP/QWP/1401/98, rev 1 corr *)
- Az EMA a következő két alpontra koncentrálna gyűjti össze az irányelveket.

1. Gyógyszerészeti minőség, amely magába foglalja
 - a fizikai-kémiai tulajdonságok meghatározását (lipid tartalom, stabilitás, tisztaság, morfológia, méreteloszlás, bezárási hatékonyság, szabadon maradt hatóanyag mennyisége stb.),
 - a gyógyszerészeti összehasonlíthatóságot a referenciakészítménnyel és
 - az alkalmazási gyógyszerforma megjelölését.
2. A nem klinikai és klinikai vizsgálatok követelményei pedig a következők:
 - nem klinikai tanulmányok jellemzése, úgy mint
 - farmakodinámiai,
 - farmakokinetikai és
 - toxikológiai tanulmányok;

- a klinikai tanulmányok magukba foglalják
 - a dózis meghatározást,
 - bioanalitikai módszerek alkalmazását,
 - farmakokinetikai eredmények értékelését valamint
 - a hatékonyság és a biztonságosság jellemzését.

Az FDA irányelv gyűjtemény felépítésében kicsit másképpen kategorizál, de hasonló a felépítése [14]. Ebben 3 nagy rész különíthető el:

1. A kémiai vizsgálatok, gyártás, ellenőrzés rész tartalmazza
 - a leírást és az összetételt,
 - a fizikai-kémiai tulajdonságok (morfológia, lamellaritás, felületi töltöttség, vezikula méret és méreteloszlás, fázisátmeneti hőmérséklet stb.) jellemzését,
 - a gyártási és ellenőrzési folyamatok leírását,
 - a segédanyagok vizsgálatát (főként a lipid komponensekkel kapcsolatban),
 - a gyógyszerkészítmény vizsgálatát,
 - a stabilitás jellemzését valamint
 - az esetleges változtatásokat a gyártásban.
2. A humán farmakológiai vizsgálatok, biológiai hasznosíthatóság rész magába foglalja
 - a bioanalitikai módszereket,
 - az *in vivo* integritás vizsgálatokat,
 - a fehérje kötődési vizsgálatokat,
 - az *in vitro* stabilitási vizsgálatokat és
 - a farmakokinetikai és biológiai hasznosíthatósági meghatározásokat.
3. A címkézés rész tartalmazza
 - a termék nevét,
 - a figyelmeztető előírásokat, valamint
 - a dózist és az adagolást.

Összehasonlítva a két szabályozást, nagyon sok hasonló pont található meg bennük. Az EMA irányelv gyűjteményébe beledolgozták az ICH szabályozó rendelkezéseket is. Az FDA ezen az összeállításon kívül kiadott egy kifejezetten doxorubicin-hidroklorid tartalmú PEG-ilált liposzómás intravénás injekciós készítményre vonatkozó szabályozást is.

Kitekintés a gyógyszeripar kereteiből. Liposzómák alkalmazása kozmetikai készítményekben

Kozmetikai irányelvek

Említést kell tenni ezzel a témával kapcsolatban a liposzómás kozmetikai készítményekre vonatkozó irányelvekről is. Külön liposzómás készítményekkel kapcsolatos kiadványok még nincsenek. Azokban a szabályozásokban található utalás erre a csoportra, amelyek nanoanyagok alkalmazásával kapcsolatosak kozmetikai készítményekben. Talán a két legfontosabb:

1. Guidance for Industry, Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products (FDA) [15] és,

2. a Guidance on the Safety Assessment of Nanomaterials in Cosmetics (European Commission, Scientific Committee on Consumer Safety) [16].

A két irányelv nagyon hasonló pontokba szedve tartalmazza az elvégzendő vizsgálatokat, amelyek teljes mértékben összeesnek a gyógyszerkészítményekkel kapcsolatos irányelv gyűjteményekkel. Az analitikai módszerek közül a legmodernebbeket vonultatja fel. Legfontosabbak a fizikai-kémiai karakterizáló módszerek és a toxikológiai vizsgálatok.

Ezek az irányelv gyűjtemények a „*nanoanyagokra*” is adnak egy definíciót, ami a következő: oldhatatlan vagy biológiailag ellenálló és mesterségesen előállított anyagok, amelyeknek belső struktúrái vagy „szemcséi” három dimenziójából egy vagy akár több az 1-100 nm-es tartományba esik. Majd külön kiemeli, hogy azok a rendszerek, amelyek oldódnak és biológiai úton degradálódnak, nem tartoznak ebbe a kategóriába, így a liposzómás készítmények sem. Ebből látható az az ellentmondás, hogy míg gyógyászati szempontból a liposzómás készítmények nanostruktúrált hordozó rendszerek, addig kozmetikai szempontból nem tekinthetjük „*nanoanyagoknak*” ezeket a rendszereket, pontosan testazonos, oldódó, biodegradábilis felépítő anyagaiknak köszönhetően. Természetesen elengedhetetlen a nanokozmetikumokkal kapcsolatban megemlíteni, hogy bizonyos szervezetek, tudatos fogyasztók ellenérzésekkel viseltethetnek a nanoanyagokkal, ezen belül a nanokozmetikumokkal kapcsolatosan. (Legjobb példaként a nano cink-oxid alkalmazását lehet említeni a napozószerekben.) A liposzómás készítmények viszont nem ebbe a kategóriába esnek, alkalmazásuk biztonságosnak tekinthető, ellenérzés az alkalmazók oldaláról sem tapasztalható, ami indokolatlan is lenne.

Liposzómát tartalmazó kozmetikumok

A bőr ápolásának kétségtelenül az egyik legmodernebb, technológiai szempontból az egyik legkorszerűbb módja a liposzómás kozmetikumok használata. A gyógyszeres liposzómák az intravénás beviteli úton kívül alkalmazhatók dermálisan, sőt transzdermálisan is. Ezt használják ki a kozmetikai iparban. A mai kozmetikai krémek, gélek gyártása során egyre gyakoribb az aktív anyag liposzómába zárása. Ennek köszönhetően alkalmazást nyerhetnek olyan aktív komponensek is, amelyek alkalmazása liposzómába zárás nélkül akadályokba ütközne. Emellett a liposzómák önmagukban, aktív anyag inkorporálása nélkül, „*üresen*” is rendelkeznek a bőrre nézve kedvező hatással. A falanyagukat felépítő lipidek szétesésükkor beépülnek a bőr epidermális lipidjei közé, a stratum corneumban lévő korneocitákkal való interakció útján, emiatt magának az „*üres*” liposzómának is van mélyhidratáló szerepe. A kozmetikai készítmények-

III. táblázat

Kozmetikai alkalmazásra szánt liposzómás készítmények aktív komponensei

Aktív anyag neve	Alkalmazása	Liposzómába zárásának oka
szalicilsav	akne kezelés, mikrobaellenes	bőrirritáló mellékhatásának csökkentése
aloe vera kivonat	antioxidáns, I-es típusú kollagén szintézis	az I-es típusú kollagén szintézis jelentős növelése
A-vitamin (retinoidok)	antioxidáns	hidrofilítás és stabilitásának növelése, citotoxikus mellékhatásának szignifikáns csökkentése
béta-karotin	antioxidáns, lipid peroxidáció csökkentése	penetrációjának fokozása
E-vitamin-acetát (tokoferol-acetát)	antioxidáns	stabilitásának növelése
ginkgo	antioxidáns	penetrációjának fokozása
katechin	antioxidáns	penetrációjának fokozása (15% etanol jelenlétében liposzómába csomagolva 5-7-szeresére nő)
koenzim Q10 (ubikinon)	antioxidáns, kollagén, elasztin termelődését elősegíti	nyújtott aktív anyag felszabadulás, penetrációjának fokozása
lupeol	antioxidáns, bőr kondicionáló ágens	penetrációjának fokozása
nátrium-aszkorbil-foszfát (C-vitamin stabil származéka)	antioxidáns, fotoprotektáns	penetrációjának fokozása
rezveratrol	antioxidáns	nyújtott aktív anyag felszabadulás, citotoxikus mellékhatásának szignifikáns csökkentése, az UV-B sugárzás türéseinek fokozása
SOD (szuperoxid-dizmutáz)	antioxidáns	UV elleni hatástartamának fokozása
urzol-sav	antioxidáns, kollagén szintézis	a bőr ceramid és kollagén tartalmának növelése
4-n-butil-rezorcínol	depigmentáló ágens	stabilitásának növelése, penetrációjának fokozása
arbutin	depigmentáló ágens	penetrációjának fokozása
hidrokinon	depigmentáló ágens	oxidációjának csökkentése, stabilitásának növelése
linolénsav	depigmentáló ágens	penetrációjának fokozása
arnica	gyulladáscsökkentő, bőnyugtató	penetrációjának fokozása
C-fikocianin	gyulladáscsökkentő	fokozott lokalizáció és gyulladáscsökkentő aktivitás
glikolsav	hámlasztó, hidratáló	bőrirritáló mellékhatásának csökkentése, kitozánnal együtt liposzómába zárva szabályozott aktív anyag felszabadulás
allantoin	hidratáló, bőrregeneráló	penetrációjának fokozása
nátrium-hialuronát	hidratáló, bőr rétegei közötti lubrikáns	penetrációjának fokozása
palmitoil hexa-peptid	ránctalanító ágens	stabilitásának és homogén eloszlásának növelése, penetrációjának fokozása, szabályozott aktív anyag felszabadulás
piknogenol (szőlőmag kivonat aktív anyaga)	ránctalanító ágens, kollagén védelme	penetrációjának fokozása
oktinoxát (oktil-metoxicinnamát vagy más néven etilhexil-metoxicinnamát)	UV sugárzás elleni védelem	penetrációjának jelentős fokozása

ben a liposzómák használatának további előnye a biokompatibilitás, a biodegradabilitás, és a nyújtott dermális aktív anyagleadás. Az aktív anyag liposzómába zártsága egyrészt biztosítja annak védelmét, másrészt csökkenti a szisztémás keringésbe történő abszorpcióját, ez által is jelentősen csökkenhetnek a nem kívánt hatásai. A kozmetikumokban alkalmazott liposzómák igen változatos méretűek. Faltanyaguk általában szójából vagy tojásból származó

természetes eredetű foszfatidil-kolin, azaz *lecithin*, emellett *koleszterint*, különböző felületaktív anyagokat, illetve egyéb komponenseket is tartalmazhatnak. A napjainkban forgalomban lévő liposzómás kozmetikai készítmények általában tartalmaznak bezárt aktív anyagokat. Ezek az aktív komponensek kémiaiilag és hatásukat tekintve is nagyon sokfélék lehetnek. A teljesség igénye nélkül, a **III. táblázat** tartalmaz közülük gyakran alkalmazottakat.

IV. táblázat

Forgalmazott kozmetikai készítmények, amelyek liposzómákat tartalmaznak

Gyártó	Készítmény neve	Aktív komponens
Lancome (L'Oreal)	Niosome (1986)	gliceropoliéter
Christian Dior	Capture (1987)	thymus kivonat, kollagén és elasztin
Annemarie Börlind	System Absolute Nappali ránckrém	aloe vera kivonat, szorbit
Annemarie Börlind	System Absolute Éjszakai ránckrém	retinol-palmitát, zöld alga kivonat
Avon	Eye Perfector szemránckrém	peptidek
Avon	Solutions Hydra Radiance bőrvédő liposzomás krém	tokoferol-acetát, oktinoxát
Babé	Bőröregedést gátló spray Botox hatással	aszorbinsav, rutinil-szulfát, L-hidroxiprolin
Belico	Basic Care I normál és zsíros bőrre	nátrium-hialuronát, tokoferol-acetát, retinol-palmitát, pantenol, tejsav
Belico	Basic Care II száraz bőrre	szkvalán, ceramid-3, tokoferol, aszkorbil-palmitát
Belico	Basic Care III regeneráló lifting	karnozin, fucoidan-escin-koffein, tripeptid, (nátrium-hialuronát, tokoferol-acetát, tejsav)
Clinique	Repairwear Laser Focus ráncalanító szérum	plankton kivonat, pinanediol, (retinol-palmitát, acetyl-hexapeptid-8)
Eucerin	DermoPurifyer terméksalád problémás bőrre	tejsav, (karnitin, decandiol, licochalconeA)
Fytofontana Cosmeceuticals	Collagenceutical ráncfeltöltő emulzió	nátrium-hialuronát
Ilesci	Ráncsimító liposzomás gél	aloe vera kivonat, tokoferol, aszkorbil-palmitát
Ilesci	ROZI liposzomás gél	csipkebogyó kivonat, tokoferol, szalicilsav
L'Oreal	Revitalift ráncalanító krém	pro-retinol A

A liposzomás kozmetikumok alkalmazásának igen fontos indikációs területe a bőröregedés elleni küzdelem („antiageing”) [3]. Ezen készítmények egyik leghatásosabb aktív komponense az A-vitamin. Igen fontos antioxidáns, ismeretes citotoxicitása, rossz kémiai stabilitása és hidrofób természete. A liposzomás kozmetikumok alkalmazást nyernek továbbá az alaphidratáló készítményekben, UV besugárzás elleni védelemben, az acne kezelés területén, és pigmentfoltok világosítására is használatosak. A terhességkor megjelenő melasma és a középkorú nőkre jellemző pigmentfoltok kezelésére alkalmas például a liposzómába zárt hidrokinnon, arbutin vagy linolénsav. A *IV. táblázatban* kerülnek bemutatásra azok a gyártók, amelyek liposzóma tartalmú kozmetikumokat állítanak elő, feltüntetve az aktív komponens(ek) nevét is.

A liposzómák témakörében elengedhetetlenül fontosnak éreztük a kozmetikai készítmények említését, részletes bemutatását, hiszen a gyógyszerárak Magyarországon is forgalmaznak ebből a csoportból készítményeket. Egy téma mögött álló gyógyszerésznek ezt az oldalt is ismernie kell, hiszen csak ilyen módon tud megfelelő információt nyújtani a felhasználó felé, és hitelesen képviselni a gyógyszerészet álláspontját a gyógyszerészeti szempontból nanokészítményeken belül, a liposzomás kozmetikumokkal kapcsolatosan.

Összefoglalás

Összefoglalásként elmondható, hogy az 1960-as évektől a liposzómák alkalmazása igen nagy fejlődésen ment keresztül. Szerkezetüket tudományos alapossággal megismerttük, sokféle típust különböztethetünk meg és a terápiás céltól függően igen sokféleképpen formulálhatók. A gyógyászatban alkalmazott készítmények indikációs területe ugyan egyre szélesebb, mégis meghatározó terület a tumorellenes szerek csoportja. Ennek elsődleges oka az igen költséges alapanyagokban, előállítási módszerekben és vizsgálómódszerekben rejlik. Olyan hatóanyagok „becsomagolására” alkalmas forma, ahol a súlyos mellékhatások csökkentése, a targetálás előtérbe helyezése a fő szempont, s nem jelent problémát a készítmény drága kialakítása. A kozmetikai készítmények tekintetében szintén meghatározó a költséges előállítás, ez a piacon lévő termékek árában is megmutatkozik. Aktív komponenseiket tekintve igen széles a paletta, mégis itt is meghatározható fő alkalmazási terület, ez pedig a bőröregedési folyamatainak késleltetése. Erre főként antioxidáns hatású aktív komponenseket használnak.

Cikkünk folytatásaként kutatócsoportunk egy következő munka összeállítását is fontosnak tartotta. Ez a citosztatikus hatóanyagot tartalmazó liposzómát tartalmazó készítményekkel kapcsolatos tudnivalókat

foglalja össze, illetve az aktív targetálás lehetőségeit részletezi.

A munka a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0035 *Környezeti tényezők és genetikai faktorok interakciójának vizsgálata immunmediált és daganatos betegségek kialakulásában* című kiemelt projekt keretében zajlott.

IRODALOM

1. Dévay A., Antal I.: A gyógyszeres terápia biofarmáciai alapjai, Medicina, Budapest, (2009). – 2. S.Vemuri, C.T. Rhodes: Pharmaceutica Acta Helventiae 70, 95-111 (1995). – 3. Aparajita, V., Ravikumar, P.: International Journal of Current Pharmaceutical Research 6, 1-7 (2014). – 4. Szebeni, J., Bedőcs, P., Rozsnyay, Z., Weiszhar, Zs., Urbanics, R., Rosivall, L., Cohen, R., Garbuzenko, O., Báthori, Gy., Tóth, M., Bünger, R., Barenholz, Y.: Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 8, 176-184 (2012). – 5. Dua, J.S., Rana, A.C., Bhandari, A.K.: International Journal of Pharmaceutical Studies and Research 14-20 (2012). – 6. Budai, M., Szőgyi, M.: Acta Pharmaceutica Hungarica 114-118 (2001). – 7. Storm, G., Crommelin, D.J.: Pharm. Sci. Techn. Today. 1, 19-31 (1998). – 8. Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S.W., Zarghami, N., Hanifepour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati-Koshki, K.: Nanoscale Research Letters, 8, 102 (2013). – 9. Lipowsky, R., Sackmann, E.: Handbook of Biological Physics, Elsevier Science B.V., (1995) 491-519. – 10. Riaz, M.: Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 65-77 (1996). – 11. Aroui, A., Hansen, A.H., Rasmussen, T.E., Mouritsen, O.G.: Current Opinion in Colloid & Interface Science 419-431 (2013). – 12. Kono, K.: Advanced Drug Delivery Reviews 53, 307-319 (2001). – 13. EMA, Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product, (2013) http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/03/WC500140351.pdf (olvasva: 2014.11.03) – 14. FDA, Guidance for Industry: Liposome Drug Products, (2002) <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070570.pdf> (olvasva: 2014.11.03) – 15. FDA, Guidance for Industry: Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products, (2014) <http://www.fda.gov/downloads/Cosmetics/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/UCM300932.pdf> (olvasva: 2014.11.03) – 16. SCCS, Guidance on the safety assessment of nanomaterials in cosmetics, (2012) http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_005.pdf (olvasva: 2014.11.03)

JÓIÁRT-LACZKOVICH O., BÓNIS E., SZABÓ-RÉVÉSZ P.: *Liposomes in pharmaceutical technology I.- Definition, types, investigation methods, international guidelines and cosmetic application*

This paper gives an overview about the liposomes from the viewpoint of the pharmaceutical technologist. The aim is to summarize the literature background, including definition, types and characterization. It also covers the investigation methods and the most important official guidelines concerning production and analysis. In order to broaden the horizon of the pharmacists we also inform about cosmetic applications of liposomes.

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszertechnológiai Intézet, Eötvös utca 6., 6720 Szeged, Magyarország